

Ocena rozprawy doktorskiej pt.:

"Poszukiwanie molekularnych podstaw dla terapeutycznego wykorzystywania sygnału histaminowego i receptorów histaminowych H1R, H2R oraz H4R w przebiegu przewlekłych nieswoistych zapaleń jelit" mgr biotechnologii Sylwii Smolińskiej z Katedry i Zakładu Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Etiopatogeneza przewlekłych nieswoistych zapaleń jelit, do których zaliczamy chorobę Leśniowskiego – Crohn'a oraz wrzodziejące zapalenie jelita grubego jest ciągle niedostatecznie poznana. Sugeruje się, że upośledzenie miejscowych mechanizmów odporności odpowiedzialne za nieprawidłową odpowiedź immunologiczną na florę bakteryjną jelit jest istotnym elementem patofizjologii tych chorób. Dane te uzasadniają temat pracy badawczej Doktorantki, której celem była ocena roli sygnału histaminowego i receptorów histaminowych jako czynników regulujących zaburzoną u chorych na NChZJ odpowiedź immunologiczną przeciw bakteriom kolonizującym przewód pokarmowy u chorych cierpiących na przewlekłe nieswoiste zapalenie jelit.

Tak sformułowany cel badań jest oryginalny w piśmiennictwie światowym i poparty wynikami prac, w tym wiodącą w świecie pracą prof. Marka Jutela, promotora niniejszej dysertacji, opublikowaną w (sic!) *Nature* w 2001 roku wskazujących na immunomodulującą funkcję histaminy i jej receptorów. Doktorantka bardzo trafnie odnosi wnioski z tych badań do prawdopodobnego znaczenia takiego udziału sygnału histaminowego w immunopatofizjologii przewlekłych chorób zapalnych jelit.

Realizując ten cel Doktorantka oceniała ekspresję receptorów histaminowych na limfocytach T i B oraz monocytach krwi obwodowej przy pomocy cytometrii przepływowej. Autorka zastosowała również metodę cytometrii przepływowej do identyfikacji subpopulacji limfocytów TH1, Th2 Th17. Metodą RT-PCR (łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym) oceniała ekspresję genów kodujących receptory histaminowe jednojądrzastych komórek krwi obwodowej jak również ekspresję genów kodujących te receptory w bioptatach tkanek jelit chorych na przewlekłe nieswoiste choroby jelit. Doktorantka zastosowała również metodę RT-PCR do oceny zarówno w bioptatach jak i komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej genów kodujących enzymy, które warunkują metabolizm histaminy i genów kodujących receptory Toll-podobne. Ponadto Autorka przeprowadziła część eksperymentu w warunkach hodowli komórkowej stymulując komórki jednojądrzaste krwi obwodowej ligandami dla receptorów Toll- podobnych w obecności histaminy oceniając następnie stężenie cytokin o aktywności prozapalnej w hodowlanym supernatancie.

Zastosowane w pracy metody badawcze są najlepsze w swojej dziedzinie. Dobór tych metod i wykorzystanie ich do realizacji projektu badawczego dowodzi dużej wiedzy Doktorantki z zakresu biologii molekularnej i złożonych procesów immunoregulacji, wskazuje na Jej dojrzałość naukową. Ponadto stanowi dowód na umiejętność wykorzystania tego doświadczenia w badaniach dotyczących patologii człowieka.

Projekt badawczy jest skonstruowany bez zarzutu. We wstępie Autorka z godną uznania wnikliwością przedstawia przegląd piśmiennictwa spełniającego kryterium obiektywizmu naukowego dotyczący etiopatogenezy nieswoistych chorób jelit, trudności diagnostycznych i terapeutycznych tej patologii. Zwraca uwagę na znaczenie flory bakteryjnej w przewodzie pokarmowym jako czynnika przyczynowego NChZ analizując w tym kontekście rolę receptorów Toll- podobnych jako struktur pełniących kluczową rolę w odporności przeciwbakteryjnej.

Ta część pracy posiada dużą wartość naukową zarówno ze względu na wnikliwość analizy stanu wiedzy dotyczącego patofizjologii NZCHJ jak i wagę kliniczną poruszanej problematyki. Autorka daje w niej wyraz bardzo dobrej znajomości piśmiennictwa dotyczącego zagadnień stanowiących przedmiot pracy, umiejętności krytycznej oceny dotychczasowych osiągnięć naukowych w tym zakresie. Szczególnie interesujący jest rozdział, w którym Autorka przedstawia dowody na ważną rolę histaminy i jej receptorów w procesach immunoregulacji i rozwoju reakcji zapalnej cytując obok pionierskich badań prof. Marka Jutela również wyniki badań własnych opublikowanych

w Allergy w 2014 roku. Jest to tym ważniejsze, że, jak podkreśla Doktorantka, działanie histaminy, jakkolwiek dobrze poznane w reakcjach nadwrażliwości typu natychmiastowego, jest ciągle niejasne w przewlekłych procesach zapalnych. Mgr Sylwia Smolińska w wyczerpujący sposób omawia funkcję poszczególnych receptorów z uwzględnieniem wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału przez te receptory ilustrując tę wiedzę rycinami i przedstawiając w formie tabelarycznej co w istotny sposób podkreśla przejrzystość pracy.

Przedstawioną mi do recenzji pracę oceniam bardzo wysoko. Praca mgr Sylwii Smolińskiej spełnia kryteria cennego dla nauki dzieła naukowego. Zarówno koncepcja pracy jak i wyniki przeprowadzonych badań z wykorzystaniem najlepszych w swojej dziedzinie technik badawczych, w tym biologii molekularnej, są oryginalne w piśmiennictwie światowym. Wyniki pracy wskazujące na odmienną odpowiedź immunologiczną w nieswoistych chorobach zapalnych jelit dowodzą znaczenia histaminy w zaburzonych w tych chorobach procesach immunoregulacji, które, jak wskazuje Doktorantka, są w istotny sposób odpowiedzialne za przewlekły proces zapalny i trudne do opanowania objawy choroby. Mają cenne walory poznawcze i odniesienie do praktyki klinicznej. Stanowią istotny przyczynek do poznania ciągle niejasnej patofizjologii nieswoistych chorób jelit.

Jest to tym ważniejsze, że choroby te nie tylko upośledzają jakość życia chorych, ale również mogą stanowić zagrożenie życia. Praca mgr Sylwii Smolińskiej stanowi cenne uzupełnienie wiodących w świecie badań prof. Marka Jutela dotyczących sygnału histaminowego w reakcjach odpornościowych. Dysertacja ta uzmysławia czytelnikowi, że postęp nauk biomedycznych pozostaje w ścisłym związku, czy też wręcz jest uwarunkowany rozwojem biologii molekularnej. Pionierskie wyniki badań Doktorantki stanowią podstawę do dalszych badań zmierzających do opracowania skuteczniejszych niż dotychczasowe metod leczenia nieswoistych chorób zapalnych jelit w oparciu o udowodnioną rolę sygnału receptorów histaminowych w tym zjawisku.

Na uznanie zasługuje fakt, że część doświadczalną pracy Doktorantka przeprowadziła w Szwajcarskim Instytucie Badań nad Alergią i Astmą podczas pobytu stypendialnego w tym ośrodku. Oceniając ekspresję receptorów histaminowych, ich aktywność funkcjonalną zarówno na poziomie genowym jak i białkowym Doktorantka zrealizowała cel pracy. Udowodniła po raz pierwszy w świecie, że ekspresja receptorów histaminowych jest zaburzona w nieswoistych chorobach jelit.

Na podstawie analizy wyników przeprowadzonych badań przeprowadzonych Doktorantka wysuwa ciekawą koncepcję zastosowania w leczeniu nieswoistych chorób jelit kombinacji leku blokującego receptory H1R i H4R i jednocześnie aktywującego receptor H2R. Autorka wyznacza tym samym kierunki przyszłych badań w tym ważnym obszarze patologii człowieka. Jest to kolejna, szczególna zaleta tej pracy.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (DZ.U.Nr 65, poz. 595, z póź. zm).

Wnoszę więc do Wysokiej Rady Wydziału Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie mgr Sylwii Smolińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy.

8356465 Prof. dr hab. med. Barbara Rogala
41-800 Zabrze, ul. Langowskiego 22
SPECJALISTA
chorób wewnętrznych
alergologii
immunologii klinicznej

Katowice, 30.10.2014r.